

Isolasi dan Karakteristik Bakteri Pendegradasi Selulosa pada Ampas Tebu Kuning (*Bagasse*)

Krispina Nofu¹, Siti Khotimah¹, Irwan Lovadi²

¹Program Studi Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Tanjungpura,
Jl. Prof. Dr. H. Hadari Nawawi, Pontianak,
email korespondensi: x_phina@ymail.com

Abstract

Cellulose is the main carbohydrate synthesized by plants and it occupies almost 60% of the components of the structure of plants. Natural process of decomposition of cellulose requires the help of microorganisms that secrete the enzyme cellulase. Bagasse contains 32-34% cellulose. This study aims to determine the cellulose degrading bacteria of yellow bagasse and know the ability of the bacteria to degrade cellulose bagasse. The samples were taken from ice-cane seller in the District of South Pontianak. To isolate of cellulose degrading bacteria, the dilution method of *Carboxymethylcellulose* (CMC) was used and HC test was performed on solid CMC. Dry weight of test was performed using a fresh bagasse as a source of cellulose. The results showed that there are fifteen pure isolates of cellulose degrading bacteria consisting of eight genera, namely *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Nocardia*, *Kurthia*, *Vibrio*, *Flavobacterium*, *Neissera*, and *Micrococcus*. AT3BPS2 isolates (*Nocardia*) has the largest ratio of 2.67 HC. Isolates that have the lowest HC constellation is AT1BPS1 isolates (*Pseudomonas*) 1.06. Isolates that has the highest cellulose degradation ability is AT1BPS2 (*Pseudomonas*) at 19.28% and isolates with the lowest degradation ability is AT3BPS2 (*Nocardia*) at 7.21%.

Kata kunci : cellulose, bagasse, cellulose degradation bacteria

PENDAHULUAN

Tanaman tahunan seperti tanaman tebu (*Saccharum officinarum*) adalah tanaman yang digunakan sebagai bahan baku pembuatan gula dan sebagai bahan dasar pembuatan makanan dan minuman (Malau, 2009). Selain itu beberapa produk derivat tebu (PDT) lainnya yang mempunyai nilai ekonomi yang tinggi baik dipasar domestik dan internasional, seperti etanol, pulp, papan partikel dan papan serat. Bagian lain dari tanaman tebu seperti daunnya dapat pula dimanfaatkan sebagai pakan ternak dan bahan baku pembuatan pupuk hijau dan pupuk kompos. Ampas tebunya digunakan oleh industri pembuat kertas sebagai campuran untuk membuat kertas.

Bagasse atau yang sering disebut dengan ampas tebu memiliki kadar air berkisar 46-52%, kadar serat sekitar 44-52% dan padatan terlarut sekitar 2-6% yang merupakan hasil dari proses pemerasan cairan tebu (Mubin dan Ratnanto, 2005). Selulosa,

lignin dan pentosa merupakan komponen yang terdapat pada serat ampas tebu, komposisi ketiga komponen tersebut berbeda tergantung pada jenis tebu (Kurniawan, 1998; Hutasoit, 1998).

Selulosa merupakan karbohidrat utama yang disintesis oleh tanaman dan menempati hampir 60% komponen penyusun struktur tumbuhan. Jumlah selulosa di alam sangat berlimpah sebagai sisa tanaman atau dalam bentuk sisa pertanian seperti jerami padi, kulit jagung, gandum, kulit tebu dan tumbuhan lainnya (Han and Chen, 2007).

Proses penguraian selulosa secara alami memerlukan bantuan mikroorganisme yang mengeluarkan enzim selulase. Selulosa dihidrolisis oleh enzim selulase dengan memotong ikatan 1,4 β -glukosida pada rantai panjang selulosa. Selulosa, pada lingkungan aerobik akan terurai menjadi glukosa dan karbondioksida yang akan bergabung ke dalam sel yang sedang tumbuh, sedangkan selulosa pada lingkungan anaerobik akan terurai menjadi alkohol dan asam

organik (Prihatiningrum, 2002).

Bakteri pendegradasi selulosa merupakan salah satu mikroorganisme yang dapat membantu proses pemecahan selulosa menjadi senyawa yang lebih sederhana seperti yang terdapat pada sisa pelapukan kayu dan tanaman. Bakteri yang terdapat dalam proses degradasi selulosa pada ampas tebu belum banyak diketahui. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui genus bakteri dan mengetahui kemampuan bakteri mendegradasi selulosa pada ampas tebu. Tujuan penelitian ini untuk Mendapatkan genus-genus bakteri pendegradasi selulosa dari ampas tebu dan untuk Mengetahui kemampuan bakteri tersebut dalam mendegradasi selulosa pada ampas tebu.

BAHAN DAN METODE

Pengambilan Sampel

Sebanyak 10 sampel ampas tebu kuning diambil secara acak dari penjual es tebu di Kecamatan Pontianak Selatan. Sampel ampas tebu yang diambil satu jenis tebu yang sama sebanyak 100 g. Sampel ampas tebu dikemas ke dalam plastik dan diberi label dari setiap pengambilan sampel dan diukur suhu udara.

Isolasi Bakteri Pendegradasi Selulosa (BPS)

Pengisolasian bakteri pendegradasi selulosa (BPS) dilakukan dengan menggunakan metode pengenceran (*dillution method*). Sampel ampas tebu dihaluskan dengan menggunakan blender kemudian ditimbang sebanyak 10 gram dan dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer 250 ml dan dibuat suspense.

Penanaman dilakukan dengan metode tuang (*pour plate method*). Kemudian dituangkan media CMC (*carboxymethylcellulose*) lalu diratakan dengan memutar searah angka delapan agar media homogen. Bakteri diinkubasi selama 72 jam pada suhu 30°C (Waluyo, 2008).

Pemurnian Isolat Bakteri Pendegradasi Selulosa (BPS)

Pemurnian bakteri dilakukan dengan inokulasi koloni bakteri yang tumbuh menggunakan jarum ose dan digoreskan pada media dengan metode goresan sinambung. Pemilihan koloni dilakukan berdasarkan ciri morfologi koloni, yaitu bentuk koloni, warna koloni, elevasi koloni, dan tepian koloni. Koloni bakteri yang akan dimurnikan ditentukan dari perwakilan tiap kelompok yang memiliki ciri yang sama. Media yang digunakan

adalah media CMC miring. Media tersebut diinkubasi selama 72 jam pada suhu 30°C (Waluyo, 2008).

Uji Hydrolysis Capacity (HC)

Uji HC ini dilakukan untuk mengetahui kemampuan dari isolat untuk mendegradasi selulosa di lingkungan sekitarnya. Rasio HC (*hydrolysis capacity /HC value*) adalah rasio antara diameter zona bening dengan diameter koloni yang menghasilkan zona bening (Lu *et al.*, 2005). Media CMC padat digunakan pada pengujian ini. Biakan dari isolat murni diambil dengan menggunakan jarum ose kemudian disentuhkan bagian ujung jarum yang mengandung biakan pada bagian tengah media CMC. Biakan dinkubasi di dalam inkubator pada suhu 30° C selama 72 jam dan diukur rasio HC.

Uji Degradasi Selulosa (Berat Kering)

Empat potong ampas tebu yang telah ditimbang berat basah awal dan kering awal (di oven) disterilisasi dengan cara direndam larutan detergen selama 1 menit dan dibilas dengan akuades steril, kemudian direndam dalam larutan Clorox 4% selama 4 menit dan dibilas dengan akuades steril, lalu ditiriskan pada kertas saring. Kemudian, biakan bakteri diambil dengan jarum ose secara aseptis dan diinokulasikan ke dalam Erlenmeyer yang berisi 90 ml media uji degradasi (berat kering) yang telah disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121⁰C dan tekanan 1,5 atm selama 20 menit. Sebanyak 4 potong ampas tebu yang telah disterilisasikan dimasukkan ke dalam medium yang telah berisi biakan bakteri. Erlenmeyer kemudian dibungkus dengan kertas karbon, selanjutnya diletakkan pada *rotary shaker* dengan kecepatan 110 rpm. Diamati terjadi atau tidaknya proses degradasi oleh bakteri pendegradasi selulosa dengan menimbang kembali berat kering ampas tebu setelah 7 hari (Charania, 2010).

Karakterisasi Bakteri Pendegradasi Selulosa (BPS)

Karakterisasi yang akan dilakukan meliputi pengamatan morfologi koloni bakteri dengan mengamati bentuk, elevasi, tepian dan warna koloni. Pengamatan morfologi sel bakteri dengan melihat bentuk dan warna sel dengan pewarnaan gram. Uji biokimia yang dilakukan meliputi uji kebutuhan oksigen, uji dekarboksilase, uji enzim katalase, uji oksidatif fermentatif (OF), uji fermentasi karbohidrat, uji sitrat, uji motilitas, uji urea, uji indol, dan uji *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tabel 1 Karakteristik Morfologi Koloni Bakteri Pendegradasi Selulosa pada

No	Kode Isolat	Bentuk	Karakter Koloni		
			Warna	Elevasi	Tepi
1	AT1BPS1	Bulat	Putih bening	Cembung	Rata
2	ATB2PS1	Tak beraturan	Putih susu	Umbolate/Seperti tombol	Berlekuk
3	AT2BPS2	Tak beraturan	Putih susu	Umbolate/Seperti tombol	Rata
4	AT3BPS 1	Tak beraturan	Putih susu	Umbolate/Seperti tombol	Lobate
5	AT3BPS2	Bundar dengan tepian timbul	Putih susu	Umbolate/Seperti tombol	Rata
6	AT4BPS1	Bulat	Putih susu	Rata/Datar	Berombak
7	AT4BPS2	Bulat	Putih bening	Rata/Datar	Rata
8	AT5BPS1	Tak beraturan	Putih bening, sedikit orange	Cembung	Berombak
9	AT6BPS1	Bulat	Putih bening	Cembung	Rata
10	AT7BPS1	Bulat	Putih susu	Datar	Rata
11	AT7BPS2	Berbenang	Putih susu	Umbolate/Seperti tombol	Berbenang
12	AT8BPS1	Bulat	Putih bening	Cembung	Rata
13	AT82BPS	Tak beraturan	Putih bening	Umbolate/Seperti tombol	Berombak
14	AT9BPS1	Bulat	Putih susu	Cembung	Rata
15	AT10BPS1	Tak beraturan	Putih susu	Cembung	Rata

Keterangan: ATBPS : isolat bakteri pendegradasi selulosa pada ampas tebu

Hasil

Hasil isolasi bakteri pendegradasi selulosa dari ampas tebu (*S. officinarum*) diperoleh lima belas isolat murni. Isolat murni tersebut memiliki karakteristik morfologi koloni seperti yang terlihat pada Tabel 1. Tabel 2 dan Gambar 1 berturut-turut menunjukkan karakteristik fisiologis bakteri pendegradasi selulosa dan rasio aktivitas dan penyusutan berat kering ampas tebu.

Pembahasan

Pengamatan morfologi bakteri AT2BPS1, AT2BPS2, AT4BPS2 dan AT7BPS1 (Tabel 1 dan Tabel 2) yang memiliki koloni berwarna putih susu, bentuk koloni bulat maupun tidak beraturan, tepian koloni rata atau tidak rata, berbentuk batang dan bersifat gram positif, lisin dan arginin menunjukkan hasil positif namun tidak pada ornitin, sukrosa dan maltose positif, katalase positif dan bersifat motil. Keempat isolat yang teridentifikasi yaitu AT2BPS1, AT2BPS2, AT4BPS2 dan AT7BPS1 memiliki ciri sesuai dengan genus *Bacillus*. Menurut Holt *et al.* (1994) dan Cowan *et al.* (1993) genus ini memiliki ciri-

ciri, sel berbentuk batang lurus, berukuran 0,5-2,5 x 1,2-10 μm , sering tersusun berpasangan atau berantai. Sel membentuk endospora oval atau bulat. Kebanyakan sel motil, katalase biasanya dibentuk oleh hampir semua spesies, dan hidup secara aerob atau anaerob fakultatif dan bersifat kemoorganotrofik.

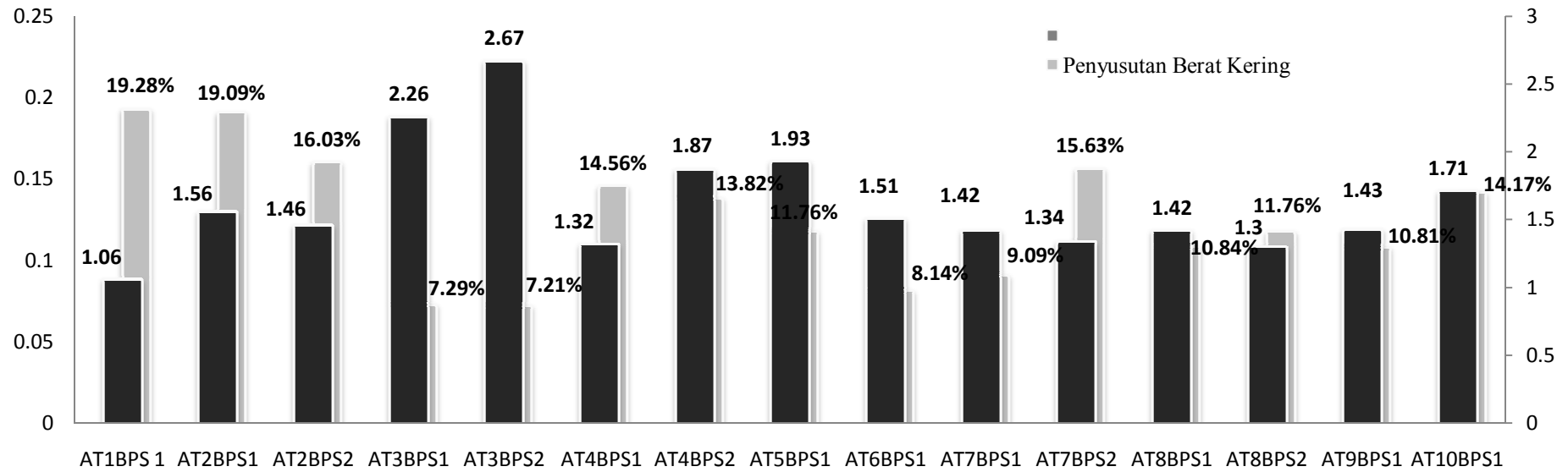
Menurut Dinda dan Maya (2013) *Bacillus* merupakan bakteri penghasil enzim amilase ekstraseluler terbesar. Enzim selulase dan enzim pendegradasi selulosa lainnya seperti xylanase merupakan enzim yang umum ditemukan pada kelompok *Bacillus*. Gen yang bertanggung jawab atas aktivitas endoglukanase juga telah berhasil dikloning dari spesies kelompok *Bacillus*, endo- β -glukonase terutama bertanggung jawab untuk hidrolisis ikatan glikosidik internal untuk mengurangi panjang rantai selulosa. Salah satu spesies *Bacillus*, yakni *B. amyloliquefasciens* umumnya digunakan untuk produksi ethanol dan bahan kimia industri lainnya melalui proses hidrolisis selulosa.

Tabel 2. Karakteristik Fisiologi Bakteri pendegradasi selulosa pada Ampas Tebu

Kode Isolat	Morfologi Sel				Karakteristik Biokimia														Genus
	Bentuk Sel	Gram	Lysine	Arginin	Orniti	Glukosa	Laktosa	Sukrosa	Maltose	Manitol	Motility	Sitrat	Urea	O/F	Indol	Katalase	O ₂	TSIA	
AT1BPS1	Batang	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+/-	-	+	-	-	+	ae/an	K/K	<i>Pseudomonas sp.</i>
AT2BPS2	Batang	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	F	-	+	ae/an	K/K	<i>Bacillus sp.</i>
AT2BPS2	Batang	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	O/F	-	+	ae/f.an	K/K	<i>Bacillus sp.</i>
AT3BPS1	Batang	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	O/F	-	+	ae	K/K	<i>Nocardia sp.</i>
AT3BPS2	Batang	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	O/F	-	+	ae	K/K	<i>Nocardia sp.</i>
AT4BPS1	Batang	+	+	+	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	+	ae/an	K/K	<i>Kurthia sp.</i>
AT4BPS2	Batang	+	-	+	-	-	-	+	+	-	+	+	+	F	-	+	ae/an	K/A	<i>Bacillus sp.</i>
AT5BPS1	Batang	-	-	+	-	+	-	-	+	-	+	-	+	O/F	-	+	ae/an	K/K	<i>Vibrio sp.</i>
AT6BPS1	Batang	-	+	+	-	+	-	+	+	-	+	-	+	F	-	+	ae/an	K/K	<i>Flavobacterium sp.</i>
AT7BPS1	Batang	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+/-	+	+	-	-	+	ae/an	K/K	<i>Bacillus sp.</i>
AT7BPS2	Bulat	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	+	ae/an	K/K	<i>Neisseria sp.</i>
AT8BPS1	Batang	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+/-	-	+	-	-	+	ae/an	A/K	<i>Pseudomonas sp.</i>
AT8BPS2	Batang	-	-	+	-	-	-	+	+	-	+	+	+	O//F	+	+	ae/an	K/K	<i>Vibrio sp.</i>
AT9BPS1	Batang	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+	-	+	-	-	+	an	K/K	<i>Pseudomonas sp.</i>
AT10BPS1	Bulat	+	-	+	-	-	-	-	+	--	+	+	+	O/F	+	+	an	K/K	<i>Micrococcus sp.</i>

Keterangan : + (positif), - (negatif), +/- (variatif), O (oksidatif), F (fermentatif), ae (aerob), an (anaerob), f.an (fakultatif anaerob), K (katalis), A (asam), TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*)

Gambar 1. Rasio Aktivitas dan Penyusutan Berat Kering Ampas Tebu



Nocardia sp. merupakan bakteri yang memiliki karakter berbentuk batang, gram positif, non motil, katalase positif dan bersifat aerob. *Nocardia* terdistribusi secara luas pada tanah (Holt *et al.*, 1994 dan Cowan *et al.* 1993). Hasil yang diperoleh terdapat dua isolat yang memiliki karakter dari genus *Nocardia* (Tabel 1 dan Tabel 2) yaitu isolat dengan kode AT3BPS1 dan AT3BPS2.

Menurut Freitas and Bhat (1958), *Nocardia* bersifat halofil di alam dan mempunyai kemampuan untuk merombak selobiosa, dextrin, selulosa, dan agar pada penambahan palmitat dan strearat, substrat yang biasa digunakan dalam uji kemampuan selulolitik. Penelitian yang dilakukan oleh Nurkanto (2007) yang mengambil sampel di Isolat bakteri AT7BPS2 memiliki karakter yang cenderung masuk ke genus *Neisseria* (Tabel 1 dan Tabel 2). Genus *Neisseria* memiliki karakter bentuk sel bulat gram negatif, katalase positif. Hasil karakterisasi isolat AT7BPS2 sesuai dengan *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (Holt *et al.*, 1994). Menurut Holt *et al.* (1994) dan Cowan *et al.* (1993) genus *Neisseria* memiliki karakter sel berbentuk bulat, berukuran 0,6-1,0 μm dan gram negatif, memiliki temperatur optimum tumbuh 35-37^o C dan beberapa spesies bersifat patogen pada manusia. *Neisseria* tidak memiliki toleransi yang tinggi terhadap kandungan NaCl. *Neisseria* memiliki aktivitas enzim hidrolitik pada substrat selulosa asetat, CMC, dan xylan, namun aktivitas enzim hidrolitik tidak tampak pada substrat *Microcrystalline Cellulose* (Avicel) (Moriyoshi *et al.*, 2005).

Berdasarkan pengamatan makroskopis dan uji biokimia, bakteri isolat AT5BPS1 dan AT8BPS2 memiliki kesamaan ciri dengan genus *Vibrio* kesamaan ciri tersebut dapat dilihat pada Tabel 1 dan Tabel 2. Bakteri *Vibrio* memiliki sel berbentuk batang dan termasuk ke dalam golongan bakteri gram negatif, motil, katalase positif, hidup secara fakultatif anaerob, bersifat kemoorganotrof, memiliki suhu optimum tumbuh 20-30^o C (Holt *et al.*, 1994).

Hutan Bukit Bangkirai Kalimantan Timur pasca kebakaran, *Nocardia* merupakan genus terbesar kedua yang ditemukan dengan kelimpahan 6.6% yang terdapat melimpah pada tanah yang bersifat obligat aerob dan beberapa ada yang bersifat patogen pada hewan dan manusia. Genus ini juga aktif dalam mendegradasi selulosa dan melarutkan fosfat. Menurut Persson *et al.* (1991) sistem enzim selulolitik yang terdapat pada *Nocardia* terdiri tiga tipe aktivitas yaitu: selobiohidrolase, endo- β -glukonase dan β -glukosidase. Aktivitas tersebut berperan secara sinergis dalam hidrolisis selulosa. Bakteri *Nocardia* sangat relevan jika ditemukan dalam penelitian yang dilakukan serta terbukti berdasarkan literatur mampu mendegradasi selulosa (Nurkanto, 2007).

Isolat AT4BPS1 memiliki kesamaan dengan genus *Khurtia*. kesamaan ciri mikroskopis dan uji biokimia isolat tersebut dapat dilihat pada Tabel 1 dan Tabel 2. Genus *Khurtia* merupakan bakteri yang memiliki karakter sel berbentuk batang, gram positif, motil, tidak memiliki endospora, dan termasuk bakteri aerob. Bakteri ini mampu tumbuh pada temperature dengan kisaran 25-30^o C dan bersifat non patogen. Genus *Khurtia* tersebar secara luas pada lingkungan dan pada feses hewan serta pada produk daging (Holt *et al.*, 1994). Hasil penelitian yang dilakukan oleh Patel dan Reese (1971), bahwa bakteri dari genus *Khurtia* yang didapat dari sedimen paya California, mampu mendegradasi selulosa (menghidrolisis CMC dan mendegradasi selobiose). Hasil pencampuran kultur murni *Cellumonas flavigen* dan *Khurtia besonii* mampu mendegradasi selulosa sebesar 64.07%.

Isolat AT10BPS1 memiliki kesamaan dengan genus *Micrococcus* (tabel 1 dan tabel 2). Isolat AT10BPS memiliki karakter sel berbentuk bulat, gram positif, katalase positif, glukosa negatif, dan laktosa negatif. Menurut Holt *et al.* (1994); Buchanan dan Gibbons, (1974) genus *Micrococcus* merupakan bakteri berbentuk sel bulat, berukuran 0,5-0,2 μm . sel tersusun tunggal, tetrad, bergerombol. Gram positif, jarang yang motil, dan tidak membentuk endospora, menghasilkan katalase. Koloni biasanya berwarna

kuning atau merah. *Micrococcus* hidup secara aerob, oksidase sering positif, meskipun ada juga yang negatif, tidak menghasilkan asam dari karbohidrat atau sedikit menghasilkan asam. Suhu optimum pertumbuhan 25-37°C, biasanya di kulit mamalia, air, tanah dan produk makanan.

Menurut Paul dan Varma (1993), dalam degradasi selulosa, *Micrococcus* dapat menghasilkan endoglukanase, xylanase, β -glukanase, dan β -xylanase. Endoglukanase dan xylanase diproduksi secara ekstraseluler, sedangkan β -glukanase dan β -xylanase diproduksi secara intraseluler.

Satu isolat yaitu AT6BPS1 memiliki karakter sama dengan genus *Flavobacterium* yang dapat dilihat pada Tabel 1 dan Tabel 2, terlihat bentuk koloni dari isolat bakteri ini yaitu bulat, tepi rata, elevasi cembung dan berwarna putih bening. Sel berbentuk batang dan bersifat gram negatif. Menurut Holt *et al.* (1994) karakter dari genus *Flavobacterium*, sel berbentuk batang dengan sisi yang jajar dan bulat, berukuran 0,5 x 1,0-3,0 μ m. Endospora tidak dibentuk, sel bersifat gram negatif, non motil, aerob, dan oksidase positif, serta dapat tumbuh di lingkungan dengan suhu 37°C. *Flavobacterium* terdapat di tanah, air, juga ditemukan pada susu, daging, dan pada makanan lainnya, serta dapat ditemukan di lingkungan rumah sakit dan material klinis manusia. Munn (2004) mengatakan bahwa genus *Flavobacterium* memproduksi berbagai enzim ekstraseluler yang berperan pada degradasi polimer seperti agar, selulosa dan kitin. Genus *Flavobacterium* merupakan salah satu genus yang penting dalam degradasi polisakarida (Yang *et al.*, 1995).

Hasil Uji Hydrolysis Capacity (HC)

Nilai rasio HC merupakan rasio diameter koloni dengan diameter zona bening yang terbentuk pada medium yang dapat dilihat pada Diagram 1. Isolat dengan kode AT3BPS2 (*Nocardia*) memiliki rasio HC (*Hydrolysis Capacity*) tertinggi, sebesar 2.67. Hal ini menunjukkan bahwa isolate tersebut memiliki kemampuan tertinggi dalam menghidrolisis CMC. Adapun yang memiliki rasio HC (*Hydrolysis Capacity*) terendah, ada pada isolat ATBPS1 (*Kurthia*) yaitu sebesar 1.06. Isolat

ini berarti memiliki kemampuan menghidrolisis CMC terkecil dibandingkan dengan isolat lainnya. Zverlova *et al.*, (2003), juga mengatakan zona bening yang terbentuk terkait dengan kelarutan dari enzim selulase. Semakin tinggi tingkat kelarutan suatu enzim maka akan semakin besar zona bening yang terbentuk. Diameter zona bening umumnya berukuran lebih besar dibandingkan dengan diameter koloni, karena enzim selulase disekresikan ke lingkungan oleh bakteri pendegradasi selulosa. Bakteri tidak dapat memasukkan molekul selulosa, karena ukuran selulosa lebih besar daripada ukuran sel bakteri.

Uji Degradasi Selulosa (Berat Kering)

Uji degradasi selulosa (berat kering) dilakukan untuk mengetahui kemampuan kelima belas isolat bakteri tersebut mendegradasi selulosa dari ampas tebu (*Bagasse*). Ampas tebu tidak hanya mengandung selulosa murni tetapi juga mengandung komponen lignin dan hemiselulosa. Lignin sebagai salah satu komponen penyusun dinding sel tanaman berikatan dengan selulosa dan hemiselulosa. Lignin yang membungkus dan mengikat selulosa secara fisik, sehingga menghalangi enzim selulase berkerja maksimal pada substrat (Meryandini *et al.*, 2009).

Nilai penyusutan berat kering (lampiran 3) ampas tebu (*bagasse*) setelah tujuh hari masa inkubasi, diasumsikan sebagai nilai degradasi selulosa dari ampas tebu (*Bagasse*), karena kandungan selulosa pada dinding sel tanaman tingkat tinggi sekitar 35-50% dari berat kering tanaman (Lynd *et al.*, 2002). Diagram 1. menunjukkan nilai penyusutan uji kemampuan degradasi ampas tebu (*Bagasse*) oleh kelima belas isolat. Penyusutan berat kering pada kontrol diduga disebabkan oleh faktor fisik yaitu ampas tebu (*Bagasse*) terendam dalam media biakan dan dikocok secara konstan menggunakan *rotary shaker* pada kecepatan 110 rpm. Pada akhir masa inkubasi (hari ke-7), media biakan kontrol terlihat bening dan tidak berbau asam, sedangkan pada perlakuan penambahan isolat penyusutan berat kering ampas tebu (*Bagasse*) selain disebabkan oleh faktor fisik juga dipengaruhi oleh faktor biologis yaitu penambahan isolat.

Menurut Lu *et al.*, (2005), uji degradasi selulosa memerlukan suhu 40°C-50°C. Karena suhu optimum enzim endoglukonase adalah 40 °C, sedangkan eksoglukonase adalah 50 °C (Ima, 2008). Penelitian ini dilakukan pada suhu ruangan sehingga diduga enzim eksoglukonase tidak berkerja secara maksimal. Enzim endoglukonase menghidrolisis secara amorf selulosa serat (Howard *et al.*, 2003) menghasilkan oligosakarida dengan panjang yang berbeda dan terbentuknya ujung rantai baru (Lyand *et al.*, 2003). Enzim eksoglukonase bekerja terhadap ujung pereduksi dan nonpereduksi rantai polisakarida selulosa dan membebaskan glukosa enzim selobiohidrolase sebagai produk utama (Lynd *et al.*, 2002).

Pengujian HC (*Hydrolysis Capacity*), terlihat zona bening di sekitar koloni pada semua isolat yang menandakan seluruh isolate memiliki enzim pendegradasi selulosa, namun masih belum dapat menunjukkan hasil degradasi selulosa berdasarkan uji berat kering secara signifikan pada selulosa alami yang terdapat pada ampas tebu. Hal ini dapat disebabkan terdapat jenis selulosa yang pada pengujian HC dengan pengujian degradasi selulosa, pada uji HC digunakan CMC sebagai bahan selulosa pada komposisi medium, sedangkan pada uji degradasi selulosa berat kering menggunakan ampas tebu sebagai sumber selulosa.

CMC memiliki struktur rantai yang lebih pendek jika dibandingkan dengan selulosa alami seperti pada ampas tebu, sehingga bakteri lebih mampu mendegradasi CMC daripada selulosa alami dan bakteri membutuhkan waktu yang lebih lama untuk mendegradasi selulosa alami dibandingkan dengan CMC. Anugraha (2008) menyebutkan, CMC adalah derivat selulosa yang direaksikan dengan asam chloroacetic bersifat alkali. Struktur dasar CMC adalah β -1,4-Glukopiranosayang merupakan polimer selulosa. Isolat yang memiliki kemampuan terbesar dalam mendegradasi ampas tebu (*Baagasse*) adalah AT1BPS1 (Diagram 1). Walaupun pada HC (*Hydrolysis Capacity*), isolat AT1BPS1 memiliki kemampuan terendah dalam menghidrolisis CMC. Hal ini diduga pada isolat AT1BPS1 memiliki enzim selulase untuk

mendegradasi selulosa alami, namun enzim endo-1,4- β -glukonasenya kurang potensial dalam mendegradasi CMC yang secara umum terdiri dari bagian amorf. Meryandini, *et al* (2009) mengatakan, dalam mendegradasi selulosa, enzim endo-1,4- β -glukanase, ekso-1,4- β -glukanase, dan β -glukosidase berkerja secara sinergis, sedangkan aktivitas enzim selulase pada substrat CMC hanya enzim endo-1,4- β -glukanase.

DAFTAR PUSTAKA

- Anugraha, P, 2008, *Deteksi Aktivitas Enzim Eksoglukanase Bakteri Selulolitik dalam Menghidrolisis Selulosa Secara In-vitro*, Universitas Airlangga: Surabaya.
- Buchanan, RE, & Gibson, NE, 1974, *Bergey's Manual Of Determinative Bacteriology, Eighth Edition*, The Williams and Wilkins Company/Baltimore, USA.
- Charania, L, 2010, *Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Aerob Pendegradasi Selulosa dari Serasah Daun Tebu (Saccharum officinaru)*, Skripsi, Institut Teknologi Sepuluh Nopember, Fakultas Matematika Ilmu Pengetahuan Alam. Surabaya.
- Cowan, ST, Steel, K.J, Barrow, GI, & Feltham, RKA, 1993, *Cowan and Steel's Manual for The Identification of Medical Bacteria 3rd Edition*, Cambridge University Press, Australia.
- Freitas, YM, & Bhat, JV, 1958, *Cellulose Decomposition by Species of Nocardia*, Microbiology Dept, St Xavier's College: Bombay.
- Han, Y, & Chen, HZ, 2007, Synergism between corn stover protein and cellulose. *Enzyme and microbial technology*, *Journal Sains and Technology*. vol. 41, hal. 638-645
- Hanifa, T, Ratn, S, & Suranto, 2006, 'Seleksi dan Identifikasi Bakteri Alkalifilik Penghasil Xilanase dari Tanah Bukit Krakitan Bayat Klaten', *Jurnal Bioteknologi*, vol: 4, no 1, hal. 6-12.
- Holt, JG, Krig, NR, Sneath, P, Staley, J, & Williams, S., 1994, *Bergeys Manual Of Determinative Bacteriology*, 9th Edition, Lipincott Williams and Wilkins Company : Philadelphia USA.
- Howard R. L, Abotsi, E, Van Rensburg, ELJ, & Howard, S, 2003, *Lignocellulose Biotechnology: Issues Of Bioconversion and Enzyme Production*. African Biotechnol, *Journal of Biotechnology*, vol. 12, hal. 602-619.
- Ima, N, P, 2008, *Penapisan Tujuh Spesies Bacillus Penghasil Selulase dan Xilanase Ekstraseluler dan Isolat Bacillus yang terpilih*, Skripsi, Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati, ITB: bandung.
- Kurniawan, Y, 1998, *Pemanfaatan Ampas Tebu Untuk Pembuatan Papan Serat Berkerapatan Sedang*

- (MDF), *Berita P3GI* 22, Februari, Pusat Penelitian Perkebunan Gula Indonesia (P3GI), Pasuruan.
- Lu, Wen-Jing, H. Wang, S, Yang, Z, Wang, & Nie, Y, 2005, 'Isolation and Characterization of Mesophilic Cellulose-Degrading Bacteria From Flower Stalks-Vegetable Waste Co-Composting System', *Applied Microbiology*, vol. 51, hal. 353-360.
- Lynd, LR, 2002, *Microbial Cellulose Utilization: Fundamentals and Biotechnology*. Microbiology And Molecular Biology Reviews, USA.
- Malau, K.M, 2009, *Pemanfaatan Ampas Tebu Sebagai Bahan Baku Dalam Pembuatan Papan Partikel*, Skripsi, Departemen Teknologi Pertanian. USU. Media.
- Meryandini, A, Wahyu, W, Besty, M, Titi, CS, Nisa R, & Hasrul S, 2009, 'Isolasi Bakteri Selulotik dan Karakteristik Enzimnya', *Makara, Sains*, vol. 13, no. 1, hal. 33-38.
- Moriyosi, K., Hayato, Y, Takashi, O, Tasuhiko, O, & Kiyofuni S, 2005, *Mod of Action On Deacetylation Of Acetylated Methyl Glycoside by Cellulose Acetate Esterase From Nisseria Sicca SB*, Departemen Of Enivironmental.
- Mubin A. & Fitriadai, R., 2005, 'Upaya Penurunan Biaya Produksi dengan Memanfaatkan Ampas Tebu Sebagai Penganti Bahan Penguat dalam Proses Produksi Asbes Semen', *Teknik Gelagar*, vol. 16, no. 1, hal. 10 - 19.
- Munn, CB, 2004, *Marine Microbiology*, Garland Scinece/Bios Scientific Publishers: UK.
- Nurkanto, A., 2007, *Identifikasi Aktimomisetes Tanah Hutan Pasca Kebakaran Bukit Bangkirai Kalimantan Timur dan Potensi Sebagai Pendegradasi Selulosa dan Pelarut Fosfat*, Biodeversitas, vol. 8, no. 4, hal. 314-319.
- Patale, I B, & Reese H V, 1971, *Cellulolytic Bacteria Associated with Sloughing Spoilage of California Ripe Olives*, *Journal American Society for Microbiology*, USA, vol. 25, no. 1.
- Paul, J, & Varma AK., 1993, 'Hydrolytic Enzyme Production in Micrococcus roseus Growing on Different Cellulosic Subtrates', *Applied Microbiology* 1993, vol. 16, hal. 167-169.
- Person, I, Tjerenid, F, & Hagerdal, BH, 1991, Fungal Cellulolytic Enzyme Production : A Review, *Journal Process Biochemistry*, vol. 26, hal. 56-74.
- Prihatiningrum, AE, 2002, 'Pengaruh Pengaturan Suhu dan Macam Bakteri Terhadap Hidrolisis Limbah Padat Pabrik Gula', *Berkala Penelitian Hayati*, Penerbit PBI, Jawa Timur.
- Waluyo, L, 2008, *Teknik Metode Dasar Mikrobiologi*, Universitas Muhamadiyah Malang Press, Malang.
- Yang, VW, Zhuang, Z, Eligir, G, & Jeffries, TW, 1995, 'Alkaline-Active Xylanase Produced by An Alkaliphilic Bacillus sp. Isolated from Kraft Pulp', *Industrial Microbiology*, vol. 15, hal. 434-441.
- Zahidah, D , & Maya S, 2013, Isolasi Karakterisasi dan Potensi Bakteri Aerob Sebagai Pendegradasi Limbah Organik, *Jurnal Sains dan Seni Pomits*, vol. 2, no. 1 .hal. 2337-3520
- Zverlova, V, V, Holl, W, & Schwarz, H, 2003, 'Enzymes for Digestion of Cellulose and Other Polysaccharides in the Gut of Longhorn Beetle Larvae, *Rahagium Inquistir* L, (Col., Cerambycidae)', *International Biodeterioation and Biodegradation*, vol. 51, hal. 175-179.